

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関
国際事務局



(43)国際公開日
2001年4月12日 (12.04.2001)

PCT

(10)国際公開番号
WO 01/25459 A1

- (51)国際特許分類: C12N 15/82, A01H 5/00 438-0802 静岡県磐田郡豊田町東原700番地 日本たばこ産業株式会社 遺伝育種研究所内 Sizuoka (JP).
- (21)国際出願番号: PCT/JP99/05386 (74)代理人: 社本一夫, 外(SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).
- (22)国際出願日: 1999年9月30日 (30.09.1999) (81)指定国(国内): AU, CA, CN, JP, KR, US.
- (25)国際出願の言語: 日本語 (84)指定国(広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (26)国際公開の言語: 日本語
- (71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 日本たばこ産業株式会社 (JAPAN TOBACCO INC.) [JP/JP]; 〒105-8422 東京都港区虎ノ門2丁目2番1号 Tokyo (JP).
- (72)発明者; および
- (75)発明者/出願人(米国についてのみ): 倉屋芳樹 (KURAYA, Yoshiki) [JP/JP], 小鞠敏彦 (KOMARI, Toshihiko) [JP/JP], 樋江井祐弘 (HIEI, Yukoh) [JP/JP]; 〒
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: VECTORS FOR TRANSFORMING PLANTS

(54)発明の名称: 植物の形質転換用ベクター

(57) Abstract: Vectors for transforming plants with the use of agrobacteria which have been modified so as to elevate the possibility of the recognition of the border sequences of the vectors by vir proteins of the agrobacteria, thereby lowering the possibility of the transfer of DNAs other than T-DNA into plant chromosomes. More particularly, the above-vectors are those to be used in transforming plants which have right and left border sequences which can be recognized by the vir proteins of the agrobacteria, a T-DNA sequence which is located between these border sequences and into which a gene to be transferred into plants can be inserted, and a replication origin enabling the replication of the vectors in bacteria, characterized by having a plural number of left border sequences.

(57)要約:

本発明は、アグロバクテリウムを利用した植物の形質転換のためのベクターを改変し、アグロバクテリウムのvirタンパク質群がベクターのボーダー配列を認識する確率を高め、T-DNA以外のDNAが植物の染色体に移される確率を低くする。

本発明は、詳細には、アグロバクテリウムのvirタンパク質群によって認識されうる右ボーダー配列及び左ボーダー配列、それらのボーダー配列間に配置され、かつ植物へ導入しようとする遺伝子が挿入可能なT-DNA配列、並びに細菌での前記ベクターの複製を可能にする複製開始点を有する植物の形質転換用ベクターであって、左ボーダー配列が複数個配置されたことを特徴とするベクターを提供する。

WO 01/25459 A1

明細書

植物の形質転換用ベクター

5 技術分野

本発明は、植物の形質転換用ベクターに関する。より具体的には、アグロバクテリウムを利用した植物の形質転換方法において有用なベクターに関する。本発明はさらに、本発明のベクターを使用する植物の形質転換方法に関する。本発明は特に、食品として摂取されることのある遺伝子組換え植物を作出するのに有用である。

背景技術

土壤細菌アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) が多くの双子葉植物に根頭癌腫病 (Crown gall disease) を引き起こすことは古くから知られており、1970年代には、Ti プラスミドが病原性に関与していること、さらに Ti プラスミドの一部である T-DNA が植物ゲノムに組み込まれることが発見された。その後この T-DNA には癌腫の誘発に必要なホルモン（サイトカイニンとオーキシン）の合成に関与する遺伝子が存在し、細菌遺伝子でありながら植物中で発現することが明らかにされた。T-DNA の切り出しと植物への伝達には Ti プラスミド上のヴィルレンス領域 (Vir 領域) に存在する遺伝子群が必要であり、また T-DNA が切り出されるためには T-DNA の両端に存在するボーダー配列が必要である。この T-DNA の両端に存在するボーダー配列をそれぞれ右ボーダー配列、左ボーダー配列という。他のアグロバクテリウム属細菌である *Agrobacterium rizogenesis* も Ri プラスミドによる同様なシステムを有している。

より具体的には、vir 領域に存在する遺伝子群を基に造られるタンパク質群 (vir タンパク質群) が左右のボーダー配列を認識し、その間の T-DNA を植物ゲノムに組み込む。この性質をもとに、T-DNA 中に外来遺伝子を挿入することで植物の形質転換ができるようになり、アグロバクテリウムによる植物の形質転換が発展してきた。

しかし、近年、ある種の植物を形質転換する場合に、ボーダー配列で T-DNA が切り出されずに、T-DNA が左ボーダー配列の外側の部分も含めて植物の染色体に移される場合があることが分かってきた (Ramanathan et al. Plant Molecular Biology 28, 1149-1154 (1995)、Kononov et al. Plant Journal 11, 945-957 (1997) など)。T-DNA 部分以外の不要な DNA が植物の染色体に移ることにより、形質転換により作成された遺伝子組換え植物が予想していない形質をもつことが懸念され、遺伝子組換え植物を利用した食品の消費者の認識 (パブリックアクセプタンス) にも重要な影響を与えることが考えられる。このためアグロバクテリウム内の T-DNA 部分以外の不要な DNA が植物の染色体に移らないようにする方法が要求されている。

T-DNA 以外の DNA 部分が植物の染色体に移るのは、アグロバクテリウムの vir タンパク質群がボーダー配列を認識していないためと考えられる。しかしながら、このような場合に対処し、ボーダー配列以外の DNA 断片が移らない、あるいは移りにくいように工夫されたベクターは開発されていない。

発明者は、T-DNA の外側の DNA が T-DNA と一緒に植物の染色体に移るのは、アグロバクテリウムの vir タンパク質群がボーダー配列を認識していないためと考えた。そこで、アグロバクテリウムを利用して植物の形質転換において用いるベクターを改変し、アグロバクテリウムの vir タンパク質群がベクターのボーダー配列を認識する確率を高め、目的とする DNA 以外の DNA が植物の染色体に移される確率を低くすることを課題とし、鋭意検討した。その結果、2つのボーダー配列のうち、形質転換用ベクターにおいて左ボーダー配列を複数並べることで、T-DNA の外側の DNA が植物の染色体に挿入されにくくなることを見出し、本発明を完成するに至った。

25 発明の概要

本発明は、アグロバクテリウムの機能を利用した植物の形質転換に用いるベクターであって、目的とする形質転換のためには不要な DNA、すなわち T-DNA 以外の DNA が植物染色体へ挿入されにくくするために改良された左ボーダー配列を有することを特徴とする植物の形質転換用ベクターを提供する。より詳細には、vir タ

ンパク質群によって認識される右ボーダー配列及び左ボーダー配列、それらのボーダー配列間に配置され、かつ植物へ導入しようとする遺伝子が挿入可能なT-DNA配列、並びに細菌（アグロバクテリウム及びベクター生産用細菌等）でベクターの複製を可能にする複製開始点（ori）を有するベクターであって、T-DNA以外のDNAが植物染色体へ挿入されにくいように改良された左ボーダー配列を有することを特徴とする植物の形質転換用ベクターを提供する。

図面の簡単な説明

図1は、実施例で用いたpSLB0ベクターを表す。pSB11のT-DNA内部にユビキチンプロモーターとユビキチンイントロンによりハイグロマイシン耐性遺伝子(HPT)を発現させるカセットを持ち、さらに制限酵素StuIで認識される部位に、ユビキチンプロモーターによりカタラーゼイントロンを含むGUS遺伝子を発現させるカセットを挿入したものである。

図2は、pSLB0ベクター、pSLB2ベクター、pSLB3ベクターの、各々の左ボーダー配列（以下「LB」ということもある。）付近の地図を表す。pSLB0のLBとGUS発現カセットの間の制限酵素PvuIIで認識される部位に、左ボーダー配列を2つ又は3つ持つDNA断片を挿入したものである。合成DNA断片により新たに挿入された左ボーダー配列（以下「sLB」と表す）が2つ、すなわちLBが合計3つのものがpSLB2、合成DNA断片により新たに挿入されたsLBが3つ、すなわちLBの合計が4つのものがpSLB3である。

発明を実施するための好ましい形態

(1) ベクターの作製

本発明のベクターは、目的とする形質転換のためには不要なDNA、すなわちT-DNA以外のDNAが植物染色体へ挿入されにくいように機能する左ボーダー配列を有する。virタンパク質群によって認識され得る塩基配列（例えば、公知の左ボーダー配列）が複数個配置された配列を含むよう、左ボーダー配列が改良されたベクターは、本発明の好ましい一態様である。

左ボーダー配列が複数個配置されたDNA断片は、公知のボーダー配列を基に

種々の公知の方法を用いて作成することができる。例えば、既存の Ti プラスミド中に既に存在する左ボーダー配列と同一の配列の一本鎖 DNA を合成し、そしてこれを二本鎖とし、必要であれば複数個連結することにより作成することができる。このように作成した DNA 断片を、植物形質転換用ベクターの T-DNA の下流の 5 既存の左ボーダー配列の前及び／又は後ろの付近に、適当な制限酵素部位等を利用して挿入することにより本発明のベクターを容易に作成することができる。

左ボーダー配列を改良して本発明のベクターとすることができる植物転換用ベクターは、少なくとも、vir タンパク質群によって認識される左右ボーダー配列、その間に配置され、かつ植物へ導入しようとする遺伝子が挿入可能な T-DNA 配列、並びにベクター生産用細菌（例えば、大腸菌）で機能可能な複製開始点を有することが必要である。好ましくは、アグロバクテリウムで機能することができる複製開始点を有するものがよい。

このような条件を満たすベクターであれば、左ボーダー配列の改良は、種々のベクターのいずれにも適用することができる。例えば、アグロバクテリウムを利用する植物の形質転換方法には（1）左右ボーダー配列を持ち、T-DNA 中に外来遺伝子を挿入したサイズの小さな中間クローニングベクター、及び vir 領域を有するアクセプター Ti プラスミドから、相同組換えによりハイブリッド Ti プラスミドベクターを形成し、これを含むアグロバクテリウムを植物に感染させる方法；（2）vir 領域を有さないサイズの小さな Ti プラスミド（ミニプラスミド又はミクロ Ti プラスミドと呼ばれ、多くの細菌内で複製可能である。）の T-DNA 中に外来遺伝子を挿入し、これを、vir 領域を有するが T-DNA を欠失させたプラスミドをあらかじめ導入したアグロバクテリウムへさらに導入し、これらを含むアグロバクテリウムを植物に感染させる方法；又は（3）左右のボーダー配列を持ち、T-DNA 中に外来遺伝子を挿入したサイズの小さなクローニングベクター、及び vir 領域の一部（vir 領域の全長から一部を欠失させたもの）を有するアクセプター Ti プラスミドから、相同組換えによりハイブリッド Ti プラスミドベクターを形成し、これを vir 領域（全長）を有するが T-DNA を欠失させたプラスミドをあらかじめ導入したアグロバクテリウムへさらに導入し、これらを含むアグロバクテリウムを植物に感染させる方法等があるが、これらの方法における種々の

ベクターの左ボーダー配列の改良が可能である。サイズの小さな Ti プラスミドの左ボーダー配列を改良したものは、T-DNA 中の外来遺伝子の改良操作等において取り扱いが容易であり、本発明のベクターの好ましい一態様である。このようなサイズの小さな Ti プラスミドの例としては、pBI101、pBI121（いずれも 5 CLONTECH 社）、又は後述する実施例中で用いた pSB11 がある。

また、本発明は、Ti プラスミドのみならず、Ri プラスミドにおいても適用することができる。

本発明のベクターは、形質転換体を選択可能とするマーカー遺伝子、例えば抗生物質耐性遺伝子、発色性遺伝子等を T-DNA 配列中に含んでもよい。具体的には、通常使用されるものを常法により用いることができ、テトラサイクリン、アンピシリン、又はカナマイシン若しくはネオマイシン、ハイグロマイシン又はスペクチノマイシン等の抗生物質耐性遺伝子等の他、ルシフェラーゼ遺伝子、 β -ガラクトシダーゼ、グリーンフルオレッセンスプロテイン (GFP)、 β -ラクタマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (CAT) 等が例示される。また、これとは別に、T-DNA 配列の外側、好ましくは左ボーダー配列の下流にマーカー遺伝子を含んでもよい。このような位置に配置されたマーカー遺伝子は改良されたボーダー配列の効果を検討するために有用である。

ここで、複製開始点とは、複製開始反応が起こる特定の DNA 領域をいい、一般には Ori と呼ばれる領域をいう。

20 (2) 形質転換

本発明のベクターは、その T-DNA 中に目的とする形質転換を行うための外来遺伝子を挿入して使用する。挿入する外来遺伝子は、通常、宿主植物体で機能可能なプロモーターとその下流の構造遺伝子（植物へ付与しようとする形質をコードする）を含む。必要に応じ、遺伝子（群）を複数個連結し、及び／又はプロモーターとその下流の構造遺伝子との間に発現効率を高めるための配列を介在させ、T-DNA 間へ挿入してもよい。

外来遺伝子を含む本発明のベクターは、目的とする植物に導入するためにその植物への感染能力を有するアグロバクテリウム属に属する細菌（例えば *Agrobacterium tumefaciens*）内へ導入される。この操作には、当業者に周知の

種々の方法を利用することができる。接合操作等を利用してアグロバクテリウム内に移してもよいし、可能であれば、外来遺伝子を含む本発明のベクターで直接アグロバクテリウムを形質転換してもよい。

本発明のベクターを含んだアグロバクテリウムを植物に感染させるには、従来の技術を利用することができる。例えば、植物体の一部を傷つけ、そこに細菌を感染させる方法、カルスに感染させる方法、プロトプラストと細菌を共培養する方法、又は葉組織の小片を細菌とともに培養する方法がある。これらの方から得られた形質転換細胞は、適当なマーカーを指標とするか、又は所望の形質を発現しているか否かによって他の細胞から選択することができる。形質転換細胞はさらに、従来技術を利用して分化させることで組換え植物体とすることができます。
10

植物の染色体 DNA に外来遺伝子を含む T-DNA が組み込まれる際には、vir 領域が必要である。vir 領域は、外来遺伝子を有するベクターから供給され得るし、また、外来遺伝子を有するベクターとは異なるベクターから供給され得る。

本発明のベクターを用いて形質転換された植物細胞は、従来技術を利用して分化させることで、組換え植物体とすることができます。形質転換植物は、適当なマーカーを指標とするか、又は所望の形質を発現しているか否かによって他のものから選択することができる。
15

目的とする形質転換のためには不要な DNA が植物染色体へ挿入されたか否かの解析は、当業者に周知の種々の方法を用いて行うことができる。例えば、ボーダー配列の外側のベクターDNA 配列を基にオリゴヌクレオチドプライマーを合成し、これを用いた PCR により形質転換植物の染色体 DNA を解析することができる。また、T-DNA 配列の外側にマーカー遺伝子を含むベクターを用いて形質転換した場合は、その発現の有無により、解析することができる。
20

本発明は、目的とする形質転換のためには不要な DNA が挿入されにくいという機能を有するが、「挿入されにくい」とは、左ボーダー配列が改良されていないベクターを用いた場合と比較して、不要な DNA が宿主植物染色体に挿入される割合が少ないこと、挿入される長さが短いこと、若しくは挿入されないこと、及び／又は、左ボーダー配列が改良されていないベクターを用いた場合と比較して、意図しない形質転換が起こる割合が少ないと、起こったとしても軽微であるこ
25

と、若しくは起こらないことをいう。また、「目的とする形質転換のためには不要な DNA」とは、ベクター中の T-DNA 配列の外側に位置する DNA（すなわち T-DNA 以外の DNA）部分又は断片をいう。それ自体で機能可能であるか又はポリペプチド又はタンパク質をコードしているかは問わない。

5 本発明の形質転換方法により形質転換される植物は、トウモロコシ、モロコシ、ライ小麦、大麦、オート麦、ライ麦、小麦、タマネギ、若しくはイネ等の单子葉植物又は大豆、アルファルファ、タバコ、アブラナ、ヒマワリ、ジャガイモ、コショウ、若しくはトマト等の双子葉植物のいずれでもよい。本発明の方法によれば目的とする形質転換のためには不必要的 DNA が植物染色体へ挿入されにくく、
10 また形質転換により作成された遺伝子組換え植物は予想していない形質をもつことが少ないことから、本発明の方法は、アグロバクテリウムによる形質転換では T-DNA 部分以外の不要な DNA が植物の染色体に移ることが特に懸念される、他の生物に食品として摂取されうる植物の形質転換に適している。特に、单子葉植物、とりわけイネの形質転換に適している。

15 なお、本明細書で「植物」というときは、特に明示しない限り、植物体（個体）の他、その種子（発芽種子、未熟種子を含む。）、部分（葉、根、茎、花、雄蕊、雌蕊、それらの片を含む。）、植物培養細胞、カルス、プロトプラストを含む。

実施例

実施例 1

(1) ベクターの作製

プラスミドベクター pSB11 (Genbank Accession No. AB027256, Komari et al. Plant Journal 10, 165-174 (1996)) の T-DNA 内部にユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (Christensen et al, Plant Molecular Biology 18, 675-
25 689 (1992)) によりハイグロマイシン耐性遺伝子 (HPT) を発現させるカセットを持つプラスミドを作成し、さらに制限酵素 StuI で認識される部位に、ユビキチンプロモーターによりカタラーゼイントロンを含む GUS 遺伝子 (Ohta et al. Plant Cell Physiology 31, 805-813 (1990)) を発現させるカセットを挿入したプラスミドを作成した (pSLB0、図 1、配列番号 1)。pSLB0 の塩基配列を配列番

号1に示す。

次にTiプラスミドpTiAch5の塩基配列(Genbank Accession No. K00548)を基に左ボーダー配列(以下「LB」と略す。)を含む合成DNAと、この合成DNAに相補的な合成DNAを作成し、2つをアニーリング、平滑化させて、LB配列を2つあるいは3つ持つDNA断片を作成した。合成した2つの合成DNAの塩基配列を配列番号2及び3に示す。このDNA断片をpSLB0のLBとGUS発現カセットの間の制限酵素PvuIIで認識される部位に挿入し、LBを複数付加させたベクターを作成した。合成DNAによるLB(以下「sLB」ということもある。)が2つ、すなわちLBが合計3つのものをpSLB2、sLBが3つ、すなわちLBの合計が4つのものをpSLB3とした(pSLB0、pSLB2、pSLB3の合成LB付近の地図を図2に示す)。これら3種のプラスミドをそれぞれ、プラスミドベクターpSB1(Genbank Accession No. AB027255、Komari et al. Plant Journal 10, 165-174 (1996))を導入した*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404に導入し、以下の試験に供試した。

(2) 形質転換

LBA4404(pSLB0)、LBA4404(pSLB2)、LBA4404(pSLB3)を用い、イネ品種「朝の光」の未熟胚由来のカルスをそれぞれ形質転換した。形質転換は樋江井らの方法(Hiei et al. Plant Journal 6, 271-282 (1994))に従った。

(3) 形質転換体でのGUS遺伝子発現の解析

実施例2で得られたハイグロマイシン抵抗性植物の葉の一部をX-Glucにより染色し、GUS遺伝子の発現を調べた。LBA4404(pSLB0)で形質転換した植物では340個体のうち17個体がGUS遺伝子の発現を示した。このことはLBが一つである従来のベクターで形質転換された植物の5%ではボーダー配列外のアグロバクテリウム由来のDNAが植物に導入されたことを示す。これに対し、LBA4404(pSLB2)、LAB4404(pSLB3)を形質転換した植物では合成LBの数が増えるに従いGUS遺伝子の発現を示す個体は減少した(表1)。これは合成LBをベクターに入れることにより左ボーダー配列外のDNAが植物に移りにくくなつたことを示す。

(4) GUS遺伝子発現を示さなかつた個体のゲノミックDNAの解析

上記試験でGUS遺伝子の発現を示さなかつた個体の中には左ボーダー配列外の

DNA が植物染色体に導入されているが GUS 遺伝子を発現させるユビキチンプロモーターまでは至らないものが含まれていることが考えられる。そこで、GUS 遺伝子の発現を示さなかった植物からランダムに、それぞれ 60 前後の独立の形質転換体を選んでゲノミック DNA を抽出し、PCR 解析を行った。PCR 解析に用いたプライマーは本来の LB と合成 LB の間から GUS 遺伝子の一部までを增幅できるよう 5 に作成した。プライマーの配列を配列番号 4 及び 5 に示す。

PCR 解析の結果、LBA4404 (pSLB0) で形質転換した植物では 67 個体中 7 個体 (10.4%) で DNA の増幅が確認され、LB が一つである従来のベクターでは作出された形質転換体の 1 割以上の高頻度で目的とする T-DNA 以外のアグロバクテリウム 10 由来 DNA が染色体に組み込まれていることが明らかとなった。これに対し、合成 LB をもつ LBA4404 (pSLB2) 及び LBA4404 (pSLB3) で形質転換した植物では、そのような DNA の増幅が確認された個体はなかった。

これらの結果を表 1 及び表 2 に示した。

表 1. GUS 遺伝子発現の解析

ベクター	形質転換個体数	GUS 発現個体の割合 (%)
pSLB0	340	5.0
pSLB2	327	1.2
pSLB3	370	0.8

表 2. ゲノミック DNA の解析

ベクター	DNA 抽出個体数	PCR により DNA が増幅された個体数
pSLB0	67	7
pSLB2	55	0
pSLB3	58	0

以上の結果から、本発明により、ボーダー配列外の DNA が植物染色体に組み込まれることが少なくなり、目的とする T-DNA だけを導入できる効率を向上させることが可能となった。 15

本明細書では、主として、複数の左ボーダー配列を使用する例によって本発明を説明した。この場合の複数の左ボーダー配列は、それぞれ同一のアグロバクテ

リウム由来のものであってもよいし、それぞれ異なるアグロバクテリウム由来のものであってもよい。しかし、本発明の主眼は、植物形質転換用ベクターの左ボーダー配列を、vir タンパク質群によってより確実に認識されるように改良し、それによって T-DNA 以外の不要な DNA が植物染色体に移らないようにできること 5 である。したがって、そのように機能することのできる改良された左ボーダー配列を有するベクターであれば、本発明の範囲に含まれる。改良された左ボーダー配列は、上に説明したものの他、例えば、(1) プラスミド中に既に存在する左ボーダー配列において、一又は複数の塩基を欠失、置換若しくは付加することにより、vir タンパク質群がより確実に認識しうる塩基配列としたもの；(2) プ 10 ラスミド中に既に存在する左ボーダー配列付近の配列において、一又は複数の塩基を欠失、置換、挿入若しくは付加することにより、vir タンパク質群がより確実に左ボーダー配列を認識しうるようにしたもの；(3) vir タンパク質群によ って認識され得る塩基配列を複数個含むような配列としたもの；及び (4) これら 15 の任意の組み合わせを含み得る。

請 求 の 範 囲

1. アグロバクテリウムの機能を利用した植物の形質転換に用いるベクターであって、T-DNA 以外の DNA が植物染色体へ挿入されにくいように左ボーダー配列
5 が改良されたことを特徴とする植物の形質転換用ベクター。
2. アグロバクテリウムの vir タンパク質群によって認識されうる右ボーダー配列及び左ボーダー配列、それらのボーダー配列間に配置され、かつ植物へ導入しようとする遺伝子が挿入可能な T-DNA 配列、並びに細菌での前記ベクターの複製を可能にする複製開始点を有する植物の形質転換用ベクターであって、T-DNA
10 以外の DNA が植物染色体へ挿入されにくいように左ボーダー配列が改良されたことと特徴とする前記ベクター。
3. 左ボーダー配列の改良が、左ボーダー配列が複数個配置されたことを含む、請求項 1 又は 2 に記載のベクター。
4. T-DNA 配列中に、形質転換体を選択可能とするマーカー遺伝子を含む請求
15 項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のベクター。
5. 複製開始点が、ベクター生産用細菌及びアグロバクテリウムを含む細菌でのベクターの複製を可能にするものである、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載のベクター。
6. 請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載のベクターを有するアグロバクテリウ
20 ムを用いる植物の形質転換方法。
7. 請求項 6 に記載の方法により形質転換された植物。

図 1

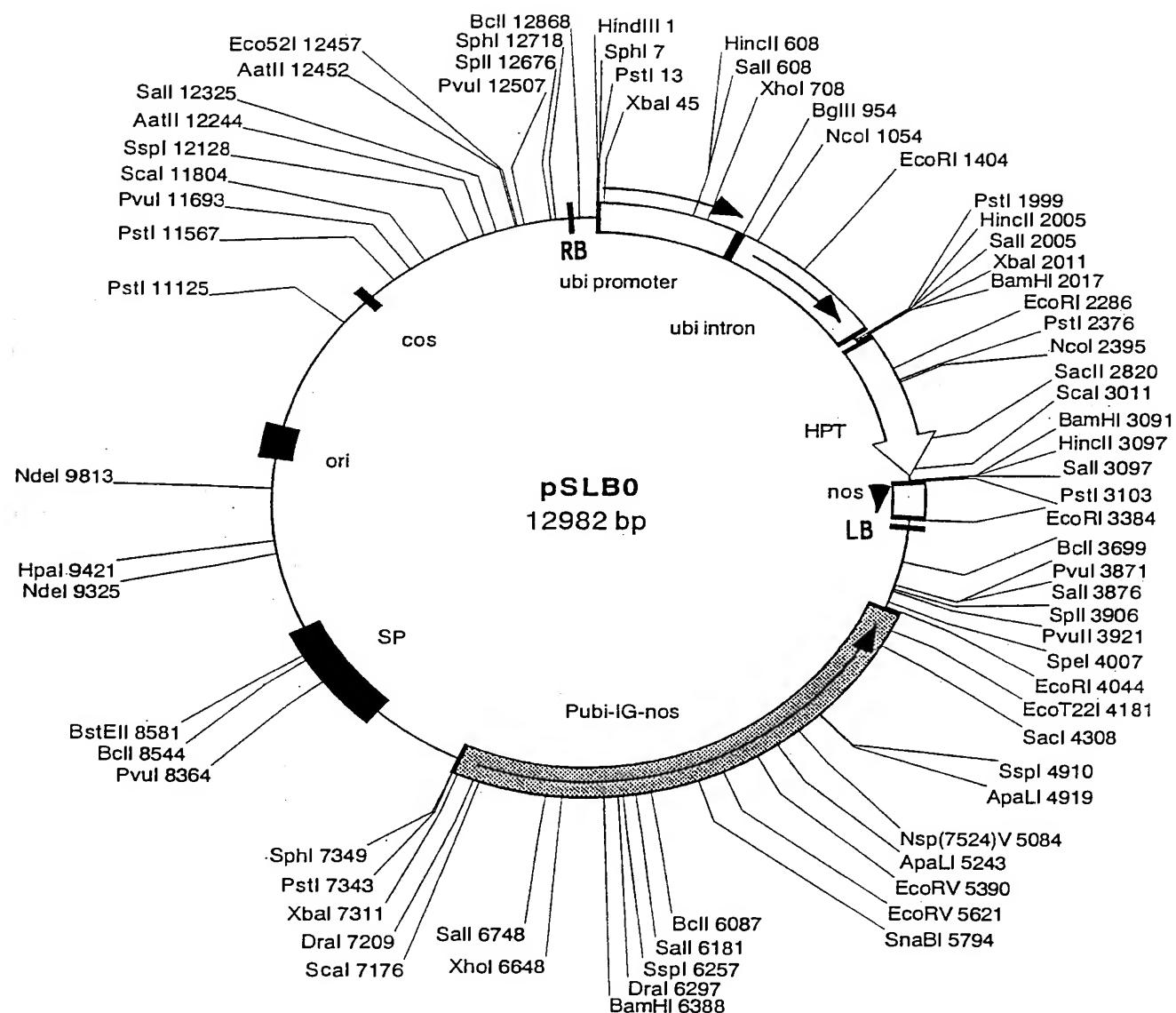
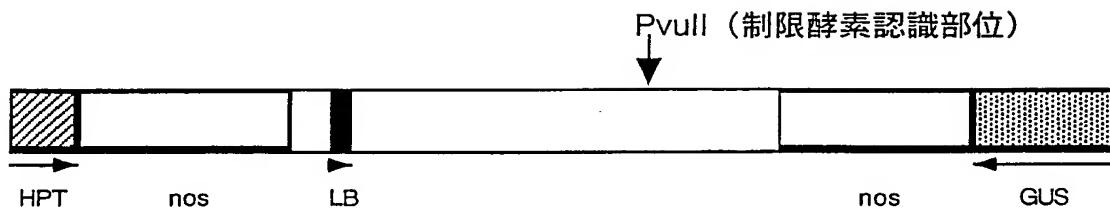
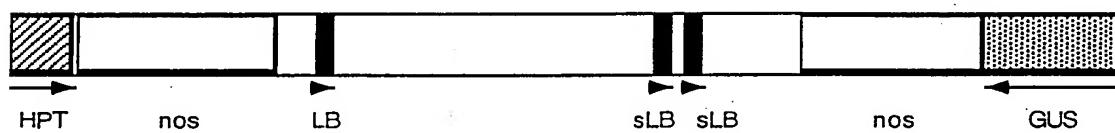


図 2

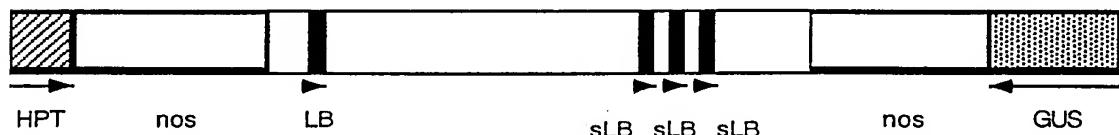
pSLB0



pSLB2



pSLB3



SEQUENCE LISTING

<110> Japan Tabacco Inc.

〈120〉 植物の形質転換用ベクター

<130> YCT-441

<160> 5

<210> 1

<211> 12982

〈212〉 D

<400> 1
aagcttgcattgcgtgacc cggcgtgcc cctctctaga gataatgagc 60
attgcattgtc taagttataa aaaattacca catattttt ttgtcacact tggtaagt 120
gcaggtttatac tatctttata catatatata aactttactc tacgaataat ataatctata 180
gtactacaat aatatcagtg ttttagagaa tcataataat gaacagttag acatggctta 240
aaggacaatt gagtattttgc acaacaggac tctacagttt tatcttttta gtgtgcattgt 300
gttctccctt ttttttgc aaatgcctac ctatataata ctccatccat ttatttagta 360
catccatata gggtttaggg ttaatggttt ttatagacta attttttag tacatctatt 420
ttattctatt ttagcctcta aattaagaaa actaaaactc tatttttagtt tttttatata 480
ataatttata tataaaatag aataaaataa agtgactaaa aattaaacaa atacccttta 540
agaaattaaa aaaactaagg aaacattttt ctgtttcgatgt ccagccgttt 600
aaacggccgtc gacgagtc acggacacca accagcgaac cagcagcgtc ggcgtggccc 660
aagcgaagca gacggcacgg catctctgtc gctgcctctg gaccctctc gagagttccg 720
ctccaccgtt ggacttgttc cgctgtcggc atccagaaat tgctggcgg agcggcagac 780
gtgagccggc acggcaggcg gccctccct cctctcacgg cacggcagct acgggggatt 840
cctttccccac cgctccctcg ctgtcccttc ctgcggcc gtaataaata gacacccct 900
ccacaccctc ttcccccaac ctgtgttgt tcggagcgca cacacacaca accagatctc 960

cgtatgttcgg ggattcccaa tacgaggtcg ccaacatctt ctctggagg ccgtggttgg 2760
cttgtatgga gcagcagacg cgctacttcg agcggaggca tccggagctt gcaggatcgc 2820
cgcggctccg ggcgtataatg cccgcattt gtcttgacca actctatcat agcttggttt 2880
acggcaattt cgtatgtgca gcttgggcgc agggtcgatg cgacgcaatc gtccgatccg 2940
gagccgggac tgtcgggcgt acacaaatcg cccgcagaag cgcggccgtc tggaccgatg 3000
gctgtgtaga agtactcgcc gatagtggaa accgacgccc cagcactcgt ccgagggcaa 3060
aggaatagag tagatgccga ccgaacaacg gatccgtcga cctgcagaga tcgttcaaac 3120
atttggcaat aaagtttctt aagattgaat cctgttgccg gtcttgcat gattatcata 3180
taatttctgt tgaattacgt taagcatgta ataattaaca tgtaatgcat gacgttattt 3240
atgagatggg ttttatgt tagagtcccg caattataca ttaataacgc gatagaaaac 3300
aaaatatagc gcgcaaacta ggataaatta tcgcgcgcgg tgtcatctat gttacttagat 3360
cgatgataag ctgtcaaaca tgagaattca gtacattaaa aacgiccgca atgtgttatt 3420
aagttgtcta agcgtcaatt ttttacacc acaatatac ctgccaccag ccagccaaca 3480
gctccccgac cggcagctcg gcacaaaatc accactcgat acaggcagcc catcagtcgg 3540
ggacggcgtc agcgggagag ccgttgcgtt ggcgcagact ttgctcatgt taccgatgct 3600
attcggaaga acggcaacta agctgcggg tttgaaacac ggtatgatctc gccggagggtt 3660
gcatgttgcgtt tgtaacgatg acagagcgat gctgcctgtt atcaaatac atctccctcg 3720
cagagatccg aattatcagc ctcttattt atttctcgat taaccgtgac aggctgtcgat 3780
tcttgagaac tatgccgaca taataggaaa tcgctggata aagccgctga ggaagctgag 3840
tggcgctatt tctttagaaat tgaacgttgcgtt cgatcgatccgatccg atgaattttt 3900
tcggacgtac gttctgaaca cagctggata ctacttggg cgattgtcat acatgacatc 3960
aacaatgtac ccgtttgtt aaccgtctt tggaggttcg tatgacacta gtggttcccc 4020
tcagctgtcg actagatgtt gaggaattcg atctagtaac atagatgaca ccgcgcgcga 4080
taatttatacc tagttgcgc gctatattttt gtttctatc gcgttattttt tgtaatattt 4140
cgggactcta atcataaaaaa cccatctcat aaataacgtc atgcattaca tgtaattttt 4200
tacatgctta acgttaattca acagaaatatttatgataatc atcgcaagac cggcaacagg 4260
attcaatctt aagaaacattt attgccaaat gtttgaacga tcaattcgat ctcggatcg 4320
aattccccac cgaggctgta gccgacgatg gtgcgccagg agagttgttgcattttt 4380
tgcctccctg ctgcggttttt taccgaatgt tcatgccat ccagcgttt tgcaagcggaa 4440

aagccgccga cttcggttgc cggtcgcgag tgaagatccc ttcttgtta ccgccaacgc 4500
gcaatatgcc ttgcgaggc gcaaaatcgg cgaaattcca tacctgttca ccgacgacgg 4560
cgctgacgca atcaaagacg cggtgataca tatccagcca tgcacactga tactcttac 4620
tccacatgtc ggtgtacatt gagtgccagcc cggctaacct atccacgccc tattcggtga 4680
tgataatcgg ctgatgcagt ttcttcgtcc aggccagaag ttcttttcc agtacccct 4740
ctgcccgttc caaatcgccg ctttggacat accatccgt aataacgggtc aggcacagca 4800
catcaaagag atcgctgatg gtatcggtgt gagcgtcgca gaacattaca ttgacgcagg 4860
tgatcgacg cgtcggtcg agttacgcgt ttgcctccgc cagtgccgaa atattccgt 4920
gcacttgcgg acgggtatcc ggttcggtgg caatactcca catcaccacg cttgggtgg 4980
tttgcgtacg cgcttatcagc tcttaatcg cctgtaaatgt cgcttgcgtga gttccccgt 5040
tgactgccttc ttgcgtgtac agttcttcgt gcttgcgtcc cgcttgcgaaa ccaatgccta 5100
aagagaggtt aaagccgaca gcagcagttt catcaatcac cacgatgccat ttgcgtatcg 5160
cccagtcgag catcttca gcgttaagggt aatgcgaggt acggtaggag ttggccccaa 5220
tccagtcacat taatgcgtgg tcgtgcacca tcagcacgtt atcgaatcct ttgccacgt 5280
agtccgcacat ttcatgacga ccaaagccag taaagttagaa cggtttgtgg ttaatcagga 5340
actgttcgccc ttcaactgc actgaccgga tgccgacgacg aagcgggttag atatcacact 5400
ctgtctggct ttggctgtg acgcacagtt catagagata accttcaccc ggttgccaga 5460
ggtgccggatt caccacttgc aaagccccgc tagtgccttgc tccagttgc accacctgtt 5520
gatccgcacat acgcagttca acgcgtacat caccatggc caccacgtc cagtcacag 5580
acgcgtgggtt acagtcttgc ggcacatgcg tcaccacgtt gatatcgiccc acccaggtgt 5640
tcggcgtgggtt gttagagcatt acgcgtgcgtt ggattccggc atagttaaag aaatcatgg 5700
agtaagactg cttttcttgc ccgtttcgtt cggtaatcac cattccggc gggatagtct 5760
gccagttcag ttgcgttgc acacaaacgg tgatacgtac acttttcccg gcaataacat 5820
acggcgtgac atcggtttca aatggcgtat agccgccttgc atgcacatc acttcctgtat 5880
tattgaccca cactttgcgtt taatgagttga ccgcacatcgaa acgcagcagc atacgcgtggc 5940
ctggccaaacc ttgcgttata aagacttgcg cgtgatccca gacgttgcggc gcataattac 6000
gaatatctgc atcggtttca aactgcgttgcg aactgcgttgcg cacagcaatt gcccggcttt 6060
tttgtaacgc gtttccac caacgcgtat caattccaca gtttgcgttgcg tccagactga 6120
atgcccacag gccgtcgagt ttttgcgttgcg gtttgcgttgcg gacggacgat 6180

gtcgacggtt ctgtaactat catcatcatc atagacacac gaaataaaagt aatcagatta 6240
tcagttaaag ctatgtataa tttacaccat aaccaatcaa ttaaaaaaaata gatcagttt 6300
aagaaaagatc aaagctcaaa aaaataaaaaa gagaaaaggg tcctaaccaa gaaaatgaag 6360
gagaaaaact agaaatttac cctgttaggaa tccatgttct aggatctggt tggtgtgtg 6420
tgcgctccga acaacacgag gtggggaaa gaggggtgtgg aggggggtgc tatttattac 6480
ggcgggchgag gaagggaaag cgaaggagcg gtgggaaagg aatccccgt agctgccgtg 6540
ccgtgagagg aggaggaggc cgccgtccgt gccggctcac gtctgccgtt ccgccacgca 6600
atttctggat gccgacagcg gagcaagtc aacggtggag cggaactctc gagaggggtc 6660
cagaggcagc gacagagatg ccgtgccgtc tgcttcgtt ggcccgaacgc gacgctgtg 6720
gttcgttgt tggtgtccgt tagactcgac gacggcggtt aacaggctgg cattatctac 6780
tcgaaacaag aaaaatgtt ccttagttt tttaatttct taaagggtat ttgttttaatt 6840
tttagtcaact ttatttatt ctatttata tctaaattat taaataaaaa aactaaaata 6900
gagttttagt ttcttaatt tagaggctaa aatagaataa aatagatgt aaaaaaaaaat 6960
tagtctataa aaaccattaa ccctaaaccc taaatggatg tactaataaa atggatgaag 7020
tattatata tagaagctat ttgcaaaaaaa aaaggagaac acatgcacac taaaagata 7080
aaactgtaga gtcctgtgt caaaatactc aattgtcctt tagaccatgt ctaactgttc 7140
atttatatac ttctctaaaa cactgatatt attgttagtac tatagattat attattcgta 7200
gagtaaagt taaatatac tataaagata gataaactgc acttcaaca agtgtgacaa 7260
aaaaaatatg tggttaattt ttataactta gacatgcaat gctcattatc tctagagagg 7320
ggcacgaccg ggtcacgctg cactgcaggc atgcaagctc ctaacattt attagagagc 7380
aggctagttg cttagataca tgatcttcag gccgttatct gtcagggcaa gcgaaaatig 7440
gccatttatg acgaccaatg ccccgagaa gctcccatct ttgccgcat agacgccg 7500
ccccctttt ggggtgtaga acatccctt gccagatgtg gaaaagaagt tcgttgtccc 7560
attgttggca atgacgttagt agccggcgaa agtgcgagac ccatttgcgc tataataag 7620
cctacgattt ccgttgcgac tattgtcgtt attggatgaa ctattatcgt agttgtctc 7680
agagtgtcg taatttgcgacttattgtc gtaattgttctt atggagttgt cgtagttgt 7740
tggagaaatg tcgttagttgg atggggagta gtcataggaa agacgagctt catccactaa 7800
acaatggc aggtcagcaa gtgcctgccc cgtatgccatc gcaagtacga ggctttagaac 7860
cacctcaac agatcgcgca tagtcttccc cagctctca acgctttagt taagccgcgc 7920

cgcgaaaggcgg cgtcggttgc aacgaattgt tagacattat ttgcccacta ccttgggtat 7980
 ctccgccttc acgttagtgaa caaatttttc caactgtatct gcgcgcgagg ccaagcgatc 8040
 ttcttgtcca agataaggct gcctagcttc aagtatgacg ggctgatact gggccggcag 8100
 gcgctccatt gcccagtcgg cagcgacatc cttcgccgatc attttgcggg ttactgcgtt 8160
 gtaccaaattt cgggacaacg taagcactac atttcgttca tcgcccagccc agtcggcgg 8220
 cgagttccat agcgtaagg tttcattttag cgccctaaat agatcctgtt caggaaccgg 8280
 atcaaagagt tccctcgccg ctggacctac caaggcaacg ctatgttctc ttgcgtttgt 8340
 cagcaagata gccagatcaa tgcgtatcgat ggcgtggctcg aagataacctg caagaatgtc 8400
 attgcgttgc cattttccaa attgcgttgc ggcgttagct ggataacgcc acgaaatgtat 8460
 gtcgtcgatgc acaacaatgg tgacttctac agcgcggaga atctcgctct ctccaggggaa 8520
 agccgaagtt tccaaaaggc tggatcaaa agctcgccgc ttgttttcat caaggcttac 8580
 ggtcaccgtt accagcaaat caataatcaat ttgtggcttc aggccgcat ccactgcgg 8640
 gccgtacaaa tgcgtggcca gcaacgtcggtt ttcgagaatgg cgctcgatga cgccaaactac 8700
 ctctgtatgt tggatcgata cttcgccgat caccgttcc ctcatgtatgt ttaactccgt 8760
 aattaagccg cggccgcgaag cgggtcggtt ttgaatgaat ttgttaggcgt catccgttgc 8820
 tccccgagaac cagtaccagt acatcgctgt ttgcgttgcgtt acttgggttcc tagttttata 8880
 cgtgaacagg tcaatgcgcgc cgagataaa gcccattttt gcgtacaaat tgcaggcagg 8940
 tacatttttc ttgtgtgtct ctaatcgat gccaaggagc tgcgtgttgcgtt gtggccactt 9000
 tttcgcaaat tcgatgagac tgcgtcgac tcctttgcctt cgggtcgatgt ggcacacaac 9060
 aatgtgttcg atagaggcta gatcggttca ttgttgatgtt agttcaatct tccccgacaag 9120
 ctcttggtcg atgaatgcgcgc catagcaagc agagtcttca tcagagtcat catccgagat 9180
 gtaatcccttc cggtaggggc tcacacttctt ggttagatgt tcaaaggctt ggtcgatgt 9240
 gtgcacatcg aacacttccatc gaacaatgaa atggtttca gcatccaatg ttccggcac 9300
 ctgttcaggatc acaccggaaa tccttcatatg acgccttacg cctggcacatc cggatcgca 9360
 acctggcgcg gcttttggca caaaaggcgat gacaggtttgc gaaatccgtt gctggccactt 9420
 tttaaccctt ttgcgcgtt tggtaactat aatttatgtt agaggcgaag tcttgggtt 9480
 aaactggccctt aaaattgtcg gggatttccatc gaaagtaaac atcacccttcc ggctcgatgt 9540
 ctatgttgcgtt tataatgtatgtt gatcggttgcgtt tctgcgttcc cgcgcgttttc 9600
 ggtgtatgacg gtgaaaacctt ctgacacatg cagctccgg agacggtcac agcttgcgtt 9660

taagcggatg ccgggagcag acaagccg¹ cagggcg² cagcgggtgt tggcgggtgt 9720
cggggcgcag ccatgaccca g³cacgt⁴ gatagcggag tgtatac⁵gg cttaacta⁶gg 9780
cggcatcaga gcagattgta c⁷gagagtgc accatatgcg gtgt⁸aaata ccgcacagat 9840
gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcg⁹ct c¹⁰ccgc¹¹tc ctcgct¹²act gactcg¹³tg¹⁴c 9900
gctcggtcg¹⁵t tcggctgcgg cgagcggtat cagct¹⁶actc aaaggcgg¹⁷ta atacggttat 9960
ccacagaatc agggataac gcagggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca 10020
ggaaccgtaa aaaggccg¹⁸cg t¹⁹gctggcgt tttccatag gctccgcccc cctgacgagc 10080
atcacaaaaa tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaaccc gacaggacta taaagatacc 10140
aggcg²⁰ttcc c²¹c²²tcg²³g²⁴g²⁵a²⁶g²⁷c²⁸g²⁹t³⁰g³¹c³²g³³t³⁴cc³⁵g³⁶c³⁷t³⁸accg 10200
gatacc³⁹tg⁴⁰tc cgc⁴¹ttt⁴²tc c⁴³tcgg⁴⁴aa g⁴⁵c⁴⁶tg⁴⁷g⁴⁸cg⁴⁹t⁵⁰tc⁵¹tc⁵²at⁵³gc⁵⁴t⁵⁵g⁵⁶ta 10260
ggtatct⁵⁷cg⁵⁸ t⁵⁹tcgg⁶⁰tg⁶¹g⁶²tag⁶³tc⁶⁴g⁶⁵c⁶⁶t⁶⁷g⁶⁸ac⁶⁹g⁷⁰a⁷¹ccc⁷²cg 10320
ttcagcccga c⁷³cg⁷⁴ct⁷⁵gc⁷⁶cc⁷⁷ t⁷⁸atccggta actatcg⁷⁹tc⁸⁰tg⁸¹atccaa⁸²c⁸³cg⁸⁴gt⁸⁵a⁸⁶ag⁸⁷ac 10380
acgacttatac gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagc⁸⁸g⁸⁹aggtaatgt⁹⁰g⁹¹ 10440
gcgg⁹²tg⁹³ct⁹⁴ac⁹⁵ agagt⁹⁶tc⁹⁷tg⁹⁸ aagtgg⁹⁹tg¹⁰⁰gc¹⁰¹ct¹⁰²ac¹⁰³gg¹⁰⁴ct¹⁰⁵ac¹⁰⁶gt¹⁰⁷at¹⁰⁸tg¹⁰⁹at¹¹⁰cg¹¹¹ 10500
tttgtatct¹¹²g¹¹³c¹¹⁴g¹¹⁵t¹¹⁶g¹¹⁷c¹¹⁸t¹¹⁹g¹²⁰a¹²¹g¹²²cc¹²³at¹²⁴tg¹²⁵gt¹²⁶at¹²⁷gt¹²⁸tg¹²⁹at¹³⁰gt¹³¹ 10560
ccggcaaaca aaccaccg¹³²ct¹³³ ggt¹³⁴ag¹³⁵cc¹³⁶gt¹³⁷g¹³⁸tt¹³⁹ttt¹⁴⁰gt¹⁴¹tg¹⁴²ca¹⁴³ag¹⁴⁴cg¹⁴⁵ac¹⁴⁶g¹⁴⁷at¹⁴⁸ac¹⁴⁹g¹⁵⁰ 10620
gcagaaaaaa aggatctaa gaagatc¹⁵¹tt tgatctt¹⁵²tc tacgggt¹⁵³ct gacgct¹⁵⁴agt¹⁵⁵ 10680
ggaacgaaaaa ctcacgttaa gggat¹⁵⁶tttgg t¹⁵⁷catgagatt atcaaaaagg atctt¹⁵⁸cac¹⁵⁹ct 10740
agatcc¹⁶⁰ttt aaattaaaaa tgaagttta aatcaatcta aagtata¹⁶¹at gagtaaact¹⁶²ti 10800
gg¹⁶³t¹⁶⁴ct¹⁶⁵g¹⁶⁶ac¹⁶⁷ag t¹⁶⁸ac¹⁶⁹ca¹⁷⁰at¹⁷¹gc¹⁷²t¹⁷³a¹⁷⁴t¹⁷⁵tc¹⁷⁶ 10860
gtt¹⁷⁷catccat agt¹⁷⁸tg¹⁷⁹ct¹⁸⁰cc¹⁸¹cg¹⁸²tg¹⁸³tg¹⁸⁴ata¹⁸⁵ac¹⁸⁶tac¹⁸⁷g¹⁸⁸g¹⁸⁹agg¹⁹⁰ct¹⁹¹ac¹⁹² 10920
catctggccc c¹⁹³at¹⁹⁴tg¹⁹⁵tc¹⁹⁶a¹⁹⁷t¹⁹⁸gat¹⁹⁹accgc²⁰⁰g²⁰¹g²⁰²ac²⁰³g²⁰⁴cc²⁰⁵tc²⁰⁶acc²⁰⁷gg²⁰⁸ct²⁰⁹cc²¹⁰ag²¹¹at²¹²tt²¹³at²¹⁴cc²¹⁵g²¹⁶t²¹⁷ 10980
cagcaataaa ccagccagcc ggaaggcccg agcgcagaag tgg²¹⁸c²¹⁹ct²²⁰g²²¹ca act²²²ttatccg²²³ 11040
c²²⁴tc²²⁵ccatcca g²²⁶t²²⁷c²²⁸tt²²⁹at²³⁰tg²³¹tg²³²cc²³³gg²³⁴gg²³⁵aa²³⁶at²³⁷ta²³⁸ta²³⁹at²⁴⁰a²⁴¹ta²⁴² 11100
gtt²⁴³tg²⁴⁴cg²⁴⁵ca²⁴⁶ c²⁴⁷tt²⁴⁸tg²⁴⁹tt²⁵⁰gc²⁵¹at²⁵²tg²⁵³tc²⁵⁴g²⁵⁵cc²⁵⁶at²⁵⁷tt²⁵⁸gt²⁵⁹tt²⁶⁰g²⁶¹ca²⁶²tt²⁶³tt²⁶⁴gt²⁶⁵tt²⁶⁶tt²⁶⁷gt²⁶⁸tt²⁶⁹tt²⁷⁰gt²⁷¹tt²⁷²tt²⁷³gt²⁷⁴tt²⁷⁵tt²⁷⁶gt²⁷⁷tt²⁷⁸tt²⁷⁹gt²⁸⁰tt²⁸¹tt²⁸²gt²⁸³tt²⁸⁴tt²⁸⁵gt²⁸⁶tt²⁸⁷tt²⁸⁸gt²⁸⁹tt²⁹⁰tt²⁹¹gt²⁹²tt²⁹³tt²⁹⁴gt²⁹⁵tt²⁹⁶tt²⁹⁷gt²⁹⁸tt²⁹⁹tt³⁰⁰gt³⁰¹tt³⁰²tt³⁰³gt³⁰⁴tt³⁰⁵tt³⁰⁶gt³⁰⁷tt³⁰⁸tt³⁰⁹gt³¹⁰tt³¹¹tt³¹²gt³¹³tt³¹⁴tt³¹⁵gt³¹⁶tt³¹⁷tt³¹⁸gt³¹⁹tt³²⁰tt³²¹gt³²²tt³²³tt³²⁴gt³²⁵tt³²⁶tt³²⁷gt³²⁸tt³²⁹tt³³⁰gt³³¹tt³³²tt³³³gt³³⁴tt³³⁵tt³³⁶gt³³⁷tt³³⁸tt³³⁹gt³⁴⁰tt³⁴¹tt³⁴²gt³⁴³tt³⁴⁴tt³⁴⁵gt³⁴⁶tt³⁴⁷tt³⁴⁸gt³⁴⁹tt³⁵⁰tt³⁵¹gt³⁵²tt³⁵³tt³⁵⁴gt³⁵⁵tt³⁵⁶tt³⁵⁷gt³⁵⁸tt³⁵⁹tt³⁶⁰gt³⁶¹tt³⁶²tt³⁶³gt³⁶⁴tt³⁶⁵tt³⁶⁶gt³⁶⁷tt³⁶⁸tt³⁶⁹gt³⁷⁰tt³⁷¹tt³⁷²gt³⁷³tt³⁷⁴tt³⁷⁵gt³⁷⁶tt³⁷⁷tt³⁷⁸gt³⁷⁹tt³⁸⁰tt³⁸¹gt³⁸²tt³⁸³tt³⁸⁴gt³⁸⁵tt³⁸⁶tt³⁸⁷gt³⁸⁸tt³⁸⁹tt³⁹⁰gt³⁹¹tt³⁹²tt³⁹³gt³⁹⁴tt³⁹⁵tt³⁹⁶gt³⁹⁷tt³⁹⁸tt³⁹⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁰⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴¹⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴²⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴³⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁴⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁵⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁶⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁷⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁸⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁴⁹⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁰⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵¹⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵²⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵³⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁴⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁵⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁶⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁷⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁸⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁵⁹⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶⁰⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹⁸gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶¹⁹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²⁰gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²¹gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²²gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²³gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²⁴gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²⁵gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²⁶gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶²⁷gt³⁹⁹tt⁴⁰⁰tt⁶

acataatcaca acgtgcgtgg aggccatcaa accacgtcaa ataatcaatt atgacgcagg 11460
tatcgtaattt attgatctgc atcaacttaa cgtaaaaaca acttcagaca atacaaatca 11520
gcgacactga atacggggca accatcatgtc cccccccccc cccccccctgc aggcacatcg 11580
gigtcacgct cgtcgtttgg tatggcttca ttcagctccg gttcccaacg atcaaggcga 11640
gttacaatgtat ccccatgtt gtgcaaaaaaaaa gcggttagct ctttcgggcc tccgatcg 11700
gtcagaagta agttggccgc agtgttatca ctatggta tggcagcact gcataattct 11760
cttactgtca tgccatccgt aagatgtttt tctgtgactg gtgagtaact aaccaagtca 11820
ttctgagaat agtgtatgct gcgaccgagt tgctcttgcc cggcgtaac acggataat 11880
accgcgccac atagcagaac tttaaaatgt ctcatcattt gaaaacgttc ttggggcga 11940
aaactctcaa ggatcttacc gctgttgaga tccagttcga tctaaccac tcgtgcaccc 12000
aactgtatctt cagcatctt tacttttacc agcgtttcg ggtgagcaaa aacaggaagg 12060
caaaaatgccg caaaaaagg aataagggcg acacggaaat gttaataact catactttc 12120
cttttcaat attattgaag catttatcag ggttatttgc tcatgagcgg atacatattt 12180
gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg gttccgcgc tattttcccg aaaagtgc 12240
cctgacgtct aagaaaccat tattatcatg acattaacct ataaaaatag gcgtatc 12300
aggccctttc gtcttcaaga attggtcgac gatcttgcg cgttcggata ttttcgtg 12360
gttccgc 12420
cagacccgga ttgaaggcga gatccagcaa ctgcgc 12480
gacggaactt tggcgcgtga tgactggcca ggacgtcggc cgaaagagcg acaagcagat 12540
cacgctttc gacagcgtcg gatttgcgat cgaggattt tcggcgc 12600
cgaccgcgtt gagggatcaa gccacagcag cccactcgac ctcttagccg acccagacga 12660
gccaaaggat cttttggaa tgctgc 12720
aacagaagtc attatgtac ggaatgc 12780
tgcacataca aatggacgaa cggataaacc tttcacgc 12840
taataaacgc tttttctt taggtttacc cgccaatata tcctgtcaaa cactgatagt 12900
ttaaactgaa ggcggaaac gacaatcg 12960
atgaccccg cegatgacgc gggacaagcc gtttacgtt tggactgac agaaccgcaa 12982
cggtgaagga gccactcagc cc

<211> 90

<212> DNA

<223>LB 配列を大文字で表す（1-25 及び 55-70）

<400> 2

ATTTACAATT GAATATATCC TGCGGccgct gccgctttgc acccgATTAA CAATTGAATA	60
TATCCTGCCG ccgcgtgccgc ttgcacccg	90

<210> 3

<211> 90

<212> DNA

<400> 3

cgggtgcaaa gcggcagcgg cggcaggata tattcaattt gaaatcggtt gcaaagcggc	60
agcggcggca ggatatattt aattgtaaat	90

<210> 4

<211> 25

<212> DNA

<400> 4

catttctcgc ttaaccgtga caggc 25

<210> 5

<211> 25

<212> DNA

<400> 5

aaaccgcagc agggaggcaa acaat 25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05386

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C12N 15/82, A01H 5/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ C12N 15/00-15/90

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Plant Molecular Biology, 34, 1997 Allan Wenck et al., "Frequent collinear long transfer of DNA inclusive of the whole binary vector during Agrobacterium-mediated transformation" pp.913-922	1-7
A	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 1986 Horsch RB et al., "Rapid assay of foreign gene expression in leaf discs transformed by Agrobacterium tumefaciens: role of T-DNA borders in the transfer process" pp.4428-4432	1-7
A	Plant Cell, 6, 1994 Martineau B. et al., "On defining T-DNA" pp.1032-1033	1-7
A	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, June 1986 George C. Jen et al., "The right border region of pTiT37 T-DNA is intrinsically more active than the left border region in promoting T-DNA transformation" pp.3895-3899	1-7

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
17 December, 1999 (17.12.99)Date of mailing of the international search report
28 December, 1999 (28.12.99)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05386

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Cell, 57, June 2, 1989 Guus Bakkeren et al., "Recovery of Agrobacterium tumefaciens T-DNA molecules from whole plants early after transfer", pp.847-857	1-7
A	Database BIOSIS on DIALOG, No.199900483906 Hanson Bill et al., "A simple method to enrich an Agrobacterium-transformed population for plants containing only T-DNA sequences", Plant Journal, 19(6), September, 1999, pp.727-734	1-7
A	Database BIOSIS on DIALOG, No.199598547959 Ramanathan V. et al., "Transfer of non-T-DNA portions of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid pTiA6 from the left terminus of T-L-DNA", Plant Molecular Biology, 28(6), 1995, pp.1149-1154	1-7

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. C 1⁷ C 12 N 15/82, A 01 H 5/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. C 1⁷ C 12 N 15/00-15/90

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (DIALOG)、WPI (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Plant Molecular Biology, 34, 1997 Allan Wenck et al., "Frequent collinear long transfer of DNA inclusive of the whole binary vector during Agrobacterium-mediated transformation" p. 913-922	1-7
A	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 1986 Horsch RB et al., "Rapid assay of foreign gene expression in leaf discs transformed by Agrobacterium tumefaciens: role of T-DNA borders in the transfer process" p. 4428-4432	1-7

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.12.99

国際調査報告の発送日

28.12.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

内田 俊生

4B 9838

印

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Plant Cell, 6, 1994 Martineau B. et al., "On defining T-DNA" p. 1032-1033	1-7
A	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, June 1986 George C. Jen et al., "The right border region of pTiT37 T-DNA is intrinsically more active than the left border region in promoting T-DNA transformation" p. 3895-3899	1-7
A	Cell, 57, June 2, 1989 Guus Bakkeren et al., "Recovery of Agrobacterium tumefaciens T-DNA molecules from whole plants early after transfer" p. 847-857	1-7
A	Database BIOSIS on DIALOG, No. 199900483906 Hanson Bill et al., "A simple method to enrich an Agrobacterium-transformed population for plants containing only T-DNA sequences" Plant Journal, 19(6), Sep. 1999 p. 727-734	1-7
A	Database BIOSIS on DIALOG, No. 199598547959 Ramanathan V. et al. "Transfer of non-T-DNA portions of the Agrobacterium tumefaciens Ti plasmid pTiA6 from the left terminus of T-L-DNA" Plant Molecular Biology, 28(6), 1995 p. 1149-1154	1-7